Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

Serologische Studien zum Nachweis eines zellulär fixierten Antikörpers bei der Transplantationsimmunität mittels des Antiglobulinkonsumptionstestes und eines fluoreszenzoptischen Verfahrens

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von
Karin Rohde
aus Jüterbog

1964

D 29

An dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. N. Henning für die Übernahme des Referates ergebenst gedankt.

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth möchte ich danken für die freundliche Überlassung des Themas und für alles Entgegenkommen, das er mir während der Arbeit zuteil werden ließ.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, Herrn Dr. H. Warnatz, der mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand, meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Dekan: Prof. Dr. med. W.-D. Keidel
Referent: Prof. Dr. med. N. Henning
Tag der mündlichen Prüfung: 12. 10. 1964.

Med. exp. 9: 110–114 (1963)

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

Serologische Studien zum Nachweis eines zellulär fixierten Antikörpers bei der Transplantationsimmunität mittels des Antiglobulinkonsumptionstestes

(1. Mitteilung)

Von H. Warnatz, F. Scheiffarth und C. Rohde

Auf die Bedeutung der sessilen Antikörper bei der Homotransplantationsimmunität wird in den Versuchen von *Mitchison* (3) hingewiesen, dem es gelang, durch Übertragung von Lymphozyten sensibilisierter Tiere eines Mäuseinzuchtstammes auf einen andern, die Transplantationsimmunität im Empfängertier nachzuweisen. Die Versuche von *Algire und Weaver* (1) mit der Diffusionskammer haben diese Befunde bestätigt. Danach spielen die zirkulierenden Antikörper (4) bei der Vernichtung überpflanzten, homologen Gewebes keine Rolle. Voraussetzung für das Wirksamwerden der Transplantationsimmunität ist der Kontakt mit mononucleären Zellen, die als Träger zellulär fixierter Antikörper aufgefaßt werden. Während seit langem Methoden zur qualitativen Charakterisierung und quantitativen Bestimmung bekannt sind, existieren bislang noch keine verläßlichen Verfahren, mit denen man in vitro das Vorhandensein zellulär fixierter Antikörper nachweisen bzw. eine quantitative Bestimmung durchführen kann; vielmehr sind wir hier ganz auf klinische und tierexperimentelle in-vivo-Verfahren angewiesen. Zielsetzung der Arbeit war es, den Nachweis von zellulär fixierten Antikörpern bei gesicherter Transplantationsimmunität mit Hilfe einer nach *Steffen* (5) modifizierten in-vitro-Technik zu führen.

Untersuchungsmaterial und Methodik

I. *Spendertiere*

Als Spendertiere wurden in unseren Versuchen gesunde männliche Mäuse des Inzuchtstammes AKR mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 20 bis 25 g verwendet.

Herrn Professor Dr. *Duesberg* (Mainz) zum 60. Geburtstag.

Eingegangen: 11. Juni 1963.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538102_0077

Als antigenes Material für die Sensibilisierung wurden in unseren Versuchen einerseits Milz- und Thymuszellsuspensionen in Ringerlösung, andererseits solche von Nierenzellen verwendet. Die Zellzahl wurde in der Zählkammer nach Thoma ermittelt.

II. *Empfängertiere und Sensibilisierungsmodus*

Als Empfängertiere wurden 200 gesunde männliche Mäuse vom Inzuchtstamm C57Bl verwendet. Einer Gruppe von Tieren wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 0,25 ml der Milz-Thymuszellsuspensionen (entsprechend 2×10^6 Zellen) und einer anderen Gruppe je 0,8 ml der Nierenzellsuspensionen (entsprechend 2×10^6 Zellen) intraperitoneal appliziert. 7 Tage nach Sensibilisierungsbeginn erfolgte die Transplantation von Haut des Spenderstammes nach dem von *Medawar* (2) angegebenen Verfahren. 14 Tage nach Sensibilisierungsbeginn wurden die Tiere in Aethernarkose getötet. Die transplantierte Haut wurde einer eingehenden makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung unterzogen. Weiterhin wurden den Tieren unter sterilen Bedingungen die zur Transplantatstelle regional gelegenen Lymphknoten sowie die nicht regionalen Lymphknoten entnommen. Nach Eröffnung der Körperhöhlen wurden Milz und Thymus gewonnen. Bei diesen Organen sollte mit Hilfe einer nach *Steffen* modifizierten in-vitro-Technik der Nachweis zellulär fixierter Antikörper geführt werden.

III. *Technik nach Steffen* (5, 6)

Im Prinzip werden bei diesem Verfahren Zellen, die auf das Vorhandensein von Antikörpern untersucht werden sollen, mit dem entsprechenden Antigen inkubiert. Die so behandelten Zellen werden anschließend mit einem in seiner Titerstärke bekannten Antiserum gegen das Antigen versetzt. Der Titerverlust wird als Maßstab für das Vorhandensein zellulär fixierter Antikörper gewertet.

Lymphknoten, Milz und Thymus der sensibilisierten Tiere wurden durch ein feinmaschiges Stahlsieb gedrückt und die so isolierten Zellen in Ca^{++}-freier Tyrodelösung suspensiert. Die Verarbeitung erfolgte getrennt für die mit Milz-, Thymus- und die mit Nierenzellsuspensionen sensibilisierten Tiere. Ebenso wurden Zellsuspensionen von Lymphknoten, Milz und Thymus von unsensibilisierten Mäusen des Stammes C57Bl hergestellt. Bei den einzelnen Versuchsphasen wurden silikonisierte Gefäße benutzt.

Anschließend erfolgte die Inkubierung der Zellen mit dem Antigen, das nach folgendem Verfahren hergestellt wurde. Milz und Thymus sowie Nieren von 10 Mäusen des Spenderstammes AKR wurden unter sterilen Bedingungen durch ein Stahlsieb gedrückt und die Zellzahl der Suspensionen in NaCl-Lösung bestimmt (Milz-Thymus 2×10^9 Zellen, Niere 6×10^9 Zellen). Die Zellen wurden mit einem Ultraturraxgerät bei 24 000 U/Min. 2×30 Sek. homogenisiert und dann bei 10 000 U/Min. und 4° C 10 Minuten zentrifugiert. Der Rückstand wurde viermal dem gleichen Prozeß unterworfen. Schließlich wurde der Eiweißgehalt des so homogenisierten antigenen Extraktes kjeldahlometrisch bestimmt.

Die nach dem oben beschriebenen Verfahren hergestellten Zellsuspensionen wurden zu gleichen Teilen auf 4 Reagenzgläser verteilt und zu den ersten

beiden der antigene Extrakt von Milz-, Thymus- bzw Nierenzellen hinzugegeben. Die beiden anderen Ansätze liefen als Kontrollversuche mit einem Mischextrakt von Milz-, Thymus- und Nierenzellen von Tieren des Stammes C57Bl bzw. als Leerversuch ohne Zusatz von Gewebsextrakten mit. Analog wurden die Zellsuspensionen nicht sensibilisierter Tiere behandelt. Diese Ansätze wurden bei 37° C im Brutschrank 30 Minuten inkubiert. Danach wurden sie 5 × mit Ca^{++}-freier Tyrodelösung gewaschen, um das überschüssige Antigen zu entfernen.

Die in ihrem Titer bekannten heterologen Immunseren stammten von Kaninchen, die durch i.v. und i.m. Injektionen von Mäuseextrakten über 2 Monate sensibilisiert worden waren.

Es wurden geometrische Verdünnungsreihen dieses bei 56° C inaktivierten Kaninchenimmunserums hergestellt. Dazu wurden die mit Antigen beladenen, gewaschenen Zellsuspensionen hinzugegeben und die Ansätze nach sorgfältigem Umschütteln bei 37° C im Brutschrank 2 Stunden inkubiert. Anschließend wurden die Zellen abzentrifugiert und der Titer nach der passiven Hämagglutinationstechnik nach *Boyden* bestimmt. Durch Vergleich der in den Haupt- und Kontrollversuchen erhaltenen Titer mit dem bekannten Titer des Kaninchenimmunserums wurden die Versuche ausgewertet.

Ergebnisse der Technik nach Steffen

Die Ergebnisse der Untersuchung der Konsumptionstechnik nach *Steffen* sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

	Antigen	Verdünnungsstufen							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Immunserum		+	+	+	+	+	+	+	+
Lymphknoten-, Milzzellen sensibilisierter Tiere	Milz AKR	+	+	—	—	—	—	—	—
	Niere AKR	+	+	+	—	—	—	—	—
	Milz C57Bl	+	+	+	+	(+)	—	—	—
		+	+	+	+	+	+	—	—
Lymphknoten-, Milzzellen unsensibilisierter Tiere	Milz AKR	+	+	+	+	+	—	—	—
	Niere AKR	+	+	+	+	+	—	—	—
	Milz C57Bl	+	+	+	+	+	—	—	—
		+	+	+	+	+	+	—	—

Der Titer des Kaninchenimmunserums wurde zu 1 : 512 bestimmt.

Durchschnittlich fand sich in den Hauptversuchen, bei denen die Kaninchenimmunseren lediglich mit Lymphknoten-, Milz- und Thymuszellen sensibilisierter Tiere inkubiert worden waren, ein

Titerrückgang von 2 Stufen, während bei zusätzlicher Verwendung des spezifischen Antigens ein solcher von 5—6 Stufen zu beobachten war. In den Versuchen mit Lymphknoten-, Milz- und Thymuszellen unsensibilisierter Tiere konnten derartige Titerrückgänge nicht nachgewiesen werden. Die Ergebnisse fielen bei den mit Milz und den mit Niere sensibiliserten Tieren etwa gleich aus. Wurde statt des Organextraktes der ursprünglichen Spendertiere ein Extrakt eines anderen Mäusestammes als Antigen verwendet, so kam es durchschnittlich zu einem Titerrückgang von 3—4 Stufen.

Diskussion

Um den Nachweis zellulär fixierter Antikörper zu führen, ist man auf komplizierte Hilfsmethoden angewiesen, die überdies mit Fehlermöglichkeiten belastet sind. Bei der Technik nach *Steffen* wird als Indikatorsystem ein heterologes Immunserum benutzt, dessen Titerabfall nach Bindung an das Antigen als Maßstab für das Vorhandensein zellulär fixierter Antikörper dient. Als Voraussetzung für das Gelingen der Reaktion muß das Antigen mit dem Antikörper reagieren. Die Antigen-Antikörper-Komplexe dürfen von den Trägerzellen nicht abdissoziieren. Das heterologe Antiserum muß seinerseits mit dem Antigen, hier dem Nierenextrakt, eine Bindung eingehen. Eine direkte Reaktion mit den Antikörpertragenden Zellen muß ausgeschlossen sein. Um die Stichhaltigkeit der Ergebnisse zu überprüfen, bedarf es daher eines umfangreichen Kontrollsystems, das garantiert, daß die obengenannten Voraussetzungen erfüllt sind.

Die mitgeteilten Resultate sprechen insgesamt für den Ablauf der dargestellten Reaktionskette und damit für das Vorhandensein zellulär fixierter Antikörper. Der immerhin zu beobachtende Titerrückgang bei direkter Inkubierung von Zellen mit dem Serum ohne Verwendung von Antigen ist auf die Reaktion des Antimäuse-Nieren-Serums von Kaninchen mit den zu untersuchenden Zellen aufzufassen und damit als Leerwert in Rechnung zu stellen. Die Spezifität der Reaktion ist durch Verwendung eines Gewebsextraktes, der von einem anderen Mäusestamm gewonnen wurde, überprüft worden.

Zusammenfassung

Zum Nachweis zellulär fixierter Antikörper bei der Homotransplantationsimmunität wurde eine nach *Steffen* modifizierte Technik zur Bestimmung des

Antiglobulinkonsumptionstestes verwendet. Die mitgeteilten Ergebnisse sprechen insgesamt für das Vorhandensein sessiler Antikörper an der Oberfläche von Lymphozyten sensibilisierter Tiere.

Summary

Steffen's modified technique for determining antiglobulin consumption was used to demonstrate cell-bound antibodies in homotransplantation immunity. The results reported suggest the presence of sessile antibodies on the surface of lymphocytes in sensitized animals.

Résumé

La technique modifiée de *Steffen* pour effectuer le test de destruction des antiglobulines a été employé afin de déceler des anticorps cellulaires fixés au cours de l'immunité d'homotransplantation. De l'ensemble des résultats rapportés on peut conclure à la présence d'anticorps sessiles à la surface des lymphocytes des animaux sensibilisés.

Literatur

1. *Algire, G. H.; Weaver, J. M.* and *Prehn, R. T.:* Growth of cells in vivo diffusion chambers; survival of homograft in immunized mice. J. nat. Cancer Inst. *15:* 493 (1954).
   Diffusion chamber technique applied to study nature of homografts resistance. J. nat. Cancer Inst. *15:* 509 (1954).
   Growth of cells in vivo in diffusion chambers; role of cells in destruction of homografts in mice. J. nat. Cancer Inst. *15:* 1737 (1955).
2. *Billingham, R. E.* and *Medawar, P. B.:* The technique of free skin grafting in mammals. Brit. J. exp. Path. *31:* 16 (1951).
3. *Mitchison, N. A.:* Passive transfer of transplantation immunity. Nature, Lond. *171:* 267 (1953).
   Passive transfer of transplantation immunity. Proc. roy. Soc., B. *142:* 72 (1954).
   Studies on immunological response to foreign tumor transplants in mouse. I. The role of lymphnode cells in conferring immunity by adoptive transfer. J. exp. Med. *102:* 157 (1955).
4. *Scheiffarth, F.; Warnatz, H.; Frenger, W.; Halfar, I.* and *Tympner, K. D.:* Experimentelle Studien zur Transplantationsimmunität (das Verhalten zirkulierender Antikörper und des Properdin bei Sensibilisierung mit homologen Gewebsantigenen. Int. Arch. Allergy (im Druck), 1962).
5. *Steffen, C.:* Serologische Bestimmung einer immunologisch antideterminierten Zellspezifität bei Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ. Int. Arch. Allergy *17:* 221 (1960).
6. *Warnatz, H.; Scheiffarth, F.* und *Halfar, I.:* Experimentelle Studien zur Transplantationsimmunität (Nachweis zellgebundener Antikörper bei Sensibilisierung mit homologen Gewebsantigenen). Med. Exp. *6:* 357 (1962).

Adresse der Autoren: Dr. H. Warnatz, Prof. Dr. F. Scheiffarth und Dr. C. Rohde, Medizinische Universitätsklinik, Krankenhausstraße 12, 852 *Erlangen* (Deutschland).

Med. exp. *9:* 115–120 (1963)

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

Fluoreszenzserologische Studien zum Nachweis eines zellulär fixierten Antikörpers bei der Transplantationsimmunität

(2. Mitteilung)

Von F. Scheiffarth, H. Warnatz und C. Rohde

Die Frage, ob zellulär fixierte Antikörper im Verlauf der Transplantationsimmunität auftreten, und in welcher Weise sie gegebenenfalls mit dem Gewebsantigen in Reaktion zu treten vermögen, konnte trotz zahlreicher Versuche in den letzten Jahren nicht geklärt werden. Die Untersuchungen von *Lawrence* (3) über das an den Zellen fixierte wirksame Prinzip führten zu einer eingehenden biochemischen und physikalischen Charakterisierung des sogenannten Transferfaktors. Aus Transplantationsversuchen von *Brent* (1) ist bekannt, daß eine Bindung eines Gewebsantigens an Lymphknotenzellen sensibilisierter Tiere erfolgen kann, die durch Abfall des Antigengehaltes in der überstehenden Flüssigkeit nachzuweisen ist.

Wir haben versucht, mit Hilfe eines fluoreszenzoptischen Verfahrens den Nachweis einer Bindung markierten Antigens an Lymphknotenzellen sensibilisierter Tiere zu führen.

Untersuchungsmaterial und Methodik

Die Sensibilisierung von 200 gesunden männlichen Mäusen des Inzuchtstammes C57Bl wurde in gleicher Weise durchgeführt, wie in Mitteilung I (5) beschrieben ist, d. h. die Tiere wurden zunächst mit Zellsuspensionen von Milz-Thymus bzw. Nieren von Mäusen des Inzuchtstammes AKR sensibilisiert, und 7 Tage später wurde eine Transplantation von Haut durchgeführt, die

Eingegangen: 11. Juni 1963.

gleichzeitig den Nachweis der Transplantationsimmunität erbringen sollte. 14 Tage nach Sensibilisierungsbeginn wurden den Tieren die regional zur Transplantatstelle gelegenen Lymphknoten sowie die nicht regionalen Lymphknoten entnommen.

Fluoreszenztechnik

Dieser Methode lag der Gedanke zugrunde, daß Zellen, die auf das Vorhandensein zellulär fixierter Antikörper untersucht werden sollen, nach Inkubation mit dem entsprechenden Antigen, das mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert wurde, eine Lumineszenzerscheinung als Ausdruck der vollzogenen Antigen-Antikörper-Reaktion erkennen lassen müßten. Wir haben dazu Gefrierschnitte von Lymphknoten mit fluoreszenzmarkiertem Antigen behandelt und die Präparate fluoreszenzmikroskopisch ausgewertet.

Die Lymphknotengefrierschnitte wurden folgendermaßen hergestellt: Die Lymphknoten wurden vom umgebenden Fettgewebe sorgfältig befreit und unmittelbar nach der Entnahme eingefroren. Mit dem Gefriermikrotom wurden Schnitte von 12 μ Dicke hergestellt und mit Methanol fixiert.

Bei der Fluoreszenzmarkierung des Antigens wurde nach der Methode *von Coons* und Mitarbeitern (2, 4) vorgegangen. Milz-, Thymus-, Nierengewebsextrakte wurden analog zu dem in Mitteilung I angegebenen Verfahren hergestellt. Der Gewebsextrakt wurde mit Fluoresceinisothiocyanat (0,025 mg/mg Protein) in der Kälte inkubiert und der überschüssige Farbstoff durch Dialysieren gegen gepufferte physiologische Kochsalzlösung sowie Absorption mit Leberpulver vom Kaninchen entfernt.

Die Gefrierschnitte der Lymphknoten wurden mit dem fluoreszenzmarkierten antigenen Extrakt auf dem Objektträger überschichtet und bei 37° C 30 Minuten lang in einer feuchten Kammer inkubiert. Die Schnitte wurden dann in gepufferter NaCl-Lösung 30 Minuten gewässert und schließlich unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet.

An Stelle von Lymphknoten sensibilisierter Tiere wurden auch solche von unbehandelten Tieren untersucht. Zum Ausschluß unspezifischer Reaktionen gelangten weiterhin fluoreszenzmarkierte Antigene von Tieren des Stammes C57Bl zur Anwendung. Schließlich wurden vor Behandlung mit markiertem Antigen bei einigen Präparaten eine Vorinkubierung mit nicht fluoreszierendem Antigen vorgenommen, ausgehend von der Vorstellung, daß durch die Vorinkubierung der zellulär fixierte Antikörper mit spezifischem Antigen abgesättigt und damit nicht mehr für das fluoreszierte Antigen zur Verfügung stehen würde. Mit Hämatoxylin-Eosin gefärbte Präparate wurden zur Lokalisation der Fluoreszenzerscheinungen hergestellt.

Ergebnisse der Fluoreszenztechnik

Die Ergebnisse der fluoreszenzoptischen Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben:

TABELLE

Antigen	unsensibilisierte Tiere (25)			mit Milz-Thymus sensibilisierte Tiere (103)						mit Niere sensibilisierte Tiere (83)					
				regionär			nicht regionär			regionär			nicht regionär		
	+	(+)	—	+	(+)	—	+	(+)	—	+	(+)	—	+	(+)	—
Milz AKR	33,3	16,7	50,0	64,6	17,7	17,7	62,5	37,5	0,0	50,0	45,4	4,6	50,0	37,5	12,5
Niere AKR	0	40,0	60,0	41,1	17,8	41,1	42,8	28,6	28,6	50,0	25,0	25,0	75,0	25,0	0
Milz C57Bl	0	33,4	66,6	25,0	35,0	40,0	25,0	50,0	25,0	11,1	22,2	66,7	33,3	33,4	33,3
Niere C57Bl	20,0	20,0	60,0	40,0	50,0	10,0	33,3	33,3	33,4	28,6	28,6	42,8	25,0	50,0	25,0
vorinkub.	0	0	100,0	0	15,4	84,6	0	50,0	50,0	14,2	28,6	57,2	25,0	0	75,0

In der Tabelle sind die Ergebnisse der fluoreszenzoptischen Untersuchungen nach dem in dem jeweiligen Kollektiv verwendeten Antigen sowie nach den Befunden von regionären und nicht regionären Lymphknoten aufgegliedert. Je nach Intensität der Fluoreszenserscheinungen sind die Ergebnisse als +, (+) bzw. — bezeichnet (s. Text). Die Zahlen bedeuten die in Prozent umgerechneten Werte des jeweiligen Gesamtkollektivs.

Bei den positiven Präparaten zeigten die Lymphozyten eine deutliche Fluoreszenz des Plasmasaums, während der Kern als dunkle Scheibe ausgespart erschien. Durch das enge Zusammenliegen im histologischen Verband ergab sich das Bild eines fluoreszierenden Netzwerks, das in Abb. 1a, b wiedergegeben ist. Bei den positiven Praeparaten zeigten alle Lymphozyten eine Fluoreszenz. Demgegenüber war bei den (+) Präparaten die Fluoreszenz sehr schwach ausgeprägt und erstreckte sich auf wenige Zellen. Bei den negativen Präparaten konnte im Bereich des lymphatischen Gewebes keine Fluoreszenz beobachtet werden.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, konnte bei Inkubation der Gefrierschnitte regionaler Lymphknoten von auf Grund histologischer Präparate sicher sensibilisierten Tieren mit dem entsprechenden Antigen in der überwiegenden Zahl der Fälle ein positives Eregbnis erzielt werden. Die Versuche mit nicht regionalen Lymphknoten brachten keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den regionalen Lymphknoten. Bei Verwendung eines nicht spezifischen Antigens wurde zwar in der Mehrzahl der Fälle ein negatives Ergebnis beobachtet, doch fanden sich in verschiedenen Präparaten auch deutliche Fluoreszenzerscheinungen. Demgegenüber brachten die Gefrierschnitte von Lymphknoten nicht sensibilisierter Tiere nahezu stets negative Ergebnisse. Auch die Kontrollversuche mit Vorinkubierung zeigten kaum Fluoreszenzerscheinungen.

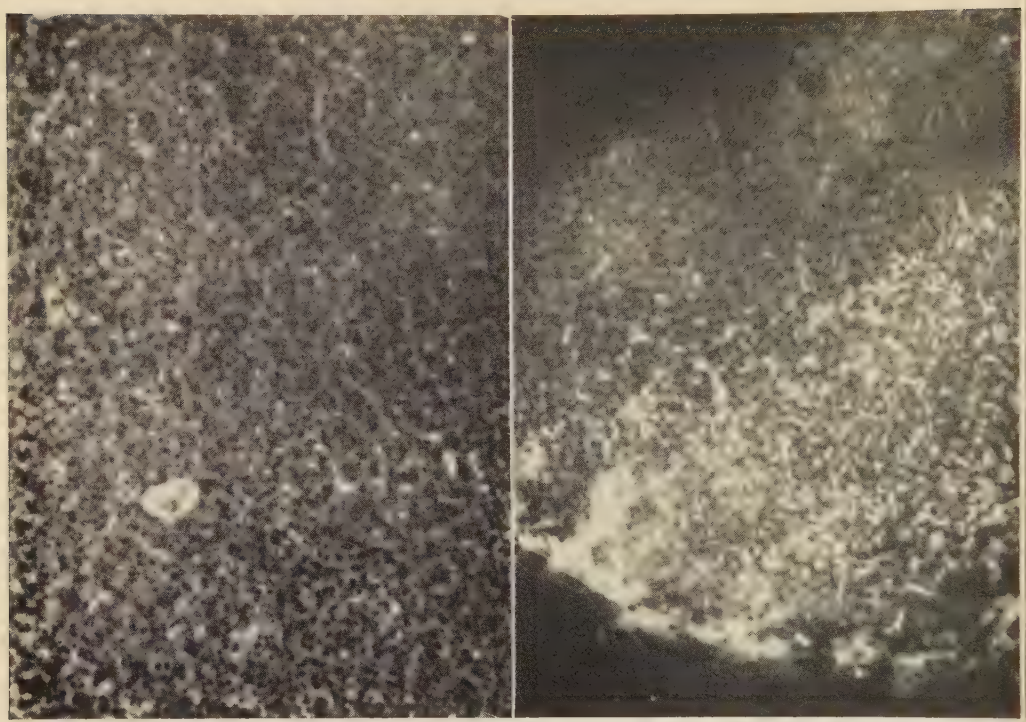

Abb. 1 a *Abb. 1 b*

Abb. 1 a und *b.* Die Abbildungen geben den fluoreszenzmikroskopischen Befund zweier Lymphknotenschnittpräparate nach Behandlung mit fluoreszenzmarkiertem Antigen wieder.

Diskussion

In unseren Versuchen sollte durch Markierung des Antigens der Nachweis von zellulär fixierten Antikörpern an der Oberfläche von Lymphknotenzellen sensibilisierter Tiere erbracht werden. Die Schwierigkeit der Methode besteht zunächst in der Zubereitung des Antigenextraktes und der Markierung des Antigens. Die hochtourige Zentrifugierung gewährleistet die Entfernung von nicht gelösten Extraktbestandteilen. Daß die Antigenität des Extraktes erhalten blieb, konnte auf Grund histologischer Transplantatstudien nachgewiesen werden. Da es sich bei den von uns verwandten Extrakten um ein Gemisch verschiedenartiger Eiweißkörper handelt, erhebt sich die Frage, in welcher Weise die Markierung der einzelnen Fraktionen gelingt. Weiterhin besteht die

Möglichkeit, daß der Extrakt durch die Fluoreszierungsprozedur verändert wird und dadurch seine spezifischen antigenen Eigenschaften verliert. Die Spezifizität der von uns beobachteten Fluoreszenzerscheinungen muß durch ein Kontrollsystem überprüft werden, zumal hier wie bei allen fluoreszenzimmunologischen Versuchen mit unspezifischen Farbstoffablagerungen an der Zelloberfläche gerechnet werden muß. Die genaue Einhaltung der in der Methodik angegebenen Standardbedingungen ist in jedem Fall für die Vergleichbarkeit der Resultate zu fordern.

Setzt man unter Berücksichtigung der Kontrollversuche voraus, daß die von uns beobachteten Lumineszenzerscheinungen als Ausdruck spezifischer Antigen-Antikörper-Reaktionen zu werten sind, so ist festzustellen, daß nicht nur die Lymphozyten der regionären, sondern auch der entfernter liegenden Lymphknoten als Träger von zellulär fixierten Antikörpern erscheinen. Die positiven Ergebnisse bei Verwendung von Extrakten der Mäuse, die nicht als Spenderstamm bei der Sensibilisierung verwandt wurden, lassen sich mit der Individualspezifität der Transplantationsimmunität nicht vereinbaren. Allerdings ist zu bedenken, daß die Sensibilisierung nicht mit lebendem Material, sondern mit Gewebsextrakten erfolgte, deren Individualspezifität unter Umständen durch die Präparation nicht erhalten geblieben war. Schwieriger sind die wenn auch wenigen Fälle mit positivem Resultat in den Untersuchungen mit Lymphknotenschnitten nicht sensibilisierter Tiere zu erklären. Hier handelt es sich offensichtlich um unspezifische Reaktionen. Demgegenüber spricht das stets negative Ergebnis bei den vorinkubierten Präparaten für eine spezifische Korrelation zwischen Antigen und den Lymphozyten in den Gefrierschnittpräparaten.

Zusammenfassung

Durch fluoreszenzserologische Methodik wird das Vorhandensein zellulär fixierter Antikörper bei der Transplantationsimmunität nachzuweisen versucht. Die Ergebnisse werden unter Berücksichtigung der Kontrollversuche diskutiert.

Summary

An attempt to demonstrate the presence of cell-bound antibodies in transplantation immunity by means of fluorescence studies is performed. The results are discussed and compared with those of control investigations.

Résumé

A l'aide d'une méthode de fluorescence appliquée à la sérologie, la présence d'anticorps cellulaires fixés au cours de l'immunité de transfert a été recherchée. Les résultats sont discutés à la lumière des essais témoins.

Literatur

1. *Berrian, J. H.* and *Brent, L.:* Cell bound antibodies in transplantation immunity. Ann. N.Y. Acad. Sci. *73:* 654 (1959).
2. *Coons, A. H.* and *Kaplan, M. H.:* Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for detection of antigen by means of fluorescent antibody. J. exp. Med. *91:* 1 (1950).
3. *Lawrence, H. S.:* The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leukocytes. J. clin. Invest. *34:* 219 (1955).
   Some biological and immunological properties of transfer factor. In: Cellular aspects of immunity, a Ciba foundation symposion, p. 243 (Churchill, London 1960).
4. *Mayersbach, H. v.:* Zur Morphologie der Oberflächentätigkeit der Zelle mit besonderer Rücksicht auf den Resorptionsprozeß (Verhandlungen des III. internationalen Histologen-Symposions in Smolenice-Bratislava 22.—25. Sept. 1960): Biologické Práce *VII/8:* 127 (1961).
5. *Warnatz, H.; Scheiffarth, F.* und *Rohde, C.:* Serologische Studien zum Nachweis eines zellulär fixierten Antikörpers bei der Transplantationsimmunität mittels des Antiglobulinkonsumptionstestes. Med. exp. (im Druck).

Adresse der Autoren: Prof. Dr. F. Scheiffarth, Dr. H. Warnatz und Dr. C. Rohde, Medizinische Universitätsklinik, Krankenhausstraße 12, 852 *Erlangen* (Deutschland).

Lebenslauf

Am 7. 8. 1938 wurde ich, Karin Rohde, als Tochter des Hauptmanns Herbert Rohde und seiner Ehefrau Irma, geb. Lohmann, in Jüterbog II geboren.

Ich besuchte die Volksschulen in Jüterbog, Frankfurt an der Oder und Sülbeck, das Gymnasium Adolfinum zu Bückeburg und legte im Landschulheim am Solling bei Holzminden am 26. 2. 1958 meine Reifeprüfung ab. Im SS 58 und WS 58/59 war ich in der naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen eingeschrieben. Mein zahnmedizinisches Studium begann ich im SS 59 an der Georg-August-Universität in Göttingen und unterzog mich nach fünf vorklinischen Semestern der zahnärztlichen Vorprüfung. Seit dem WS 61/62 studierte ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg und legte am 22. 9. 1964 mein zahnärztliches Staatsexamen ab.